

SÉRIE A, N° 1549

N° D'ORDRE : 2415

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Mlle Raymonde LOUFRANI

Ancienne Elève de l'Institut Pasteur

1^{re} THÈSE

Contribution à l'étude des moyens de défense de l'organisme contre les hémorragies

RECHERCHES SUR LES VARIATIONS DES PROTÉIDES, DES LIPIDES
ET DES STÉROLS DU SÉRUM SANGUIN SOUS L'INFLUENCE DES SAIGNÉES

2^{me} THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le

24 JUIN

1935

devant la Commission d'examen

Président : M. Ch. PÉREZ

Examineurs : M M. PORTIER
R. LÉVY

CLERMONT (Oise)

THIRON & CIE IMPRIMEURS

1935

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire M. MOLLIARD.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

<i>Professeurs honoraires</i>	H. LE CHATELIER.	LÉON BRILLOUIN.	AUGER.
	H. LEBESGUE.	GOURSAT.	BLAISE.
	A. FERNBACH.	WALLERANT.	DANGEARD.
	A. LEDUC.	GUILLET.	JANET.
	Emile PICARD.	PICHARD.	LESPIAU.
	Rémy PERRIER.	FREUNDLER.	MARCHIS.
			MOUTON.

PROFESSEURS

G. BERTRAND... † Chimie biologique.	A. DEBIERNE... † Radioactivité.
M. CAULLERY... † Zoologie (évolution des êtres organisés).	A. DUFOUR ... † Physique (P. C. B.).
G. URBAIN... † Chimie générale.	L. DUNOYER... † Optique appliquée.
Emile BOREL... † Calcul des probabilités et Physique mathém.	A. GUILLIERMOND. † Botanique (P. C. B.)
Jean PERRIN... † Chimie physique.	M. JAVILLIER... Chimie biologique.
H. ABRAHAM... † Physique.	L. JOLEAUD... † Paléontologie.
E. CARTAN... † Géométrie supérieure.	ROBERT-LÉVY... † Zoologie.
M. MOLLIARD... † Physiologie végétale.	E. PICARD... † Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. LAPICQUE... † Physiologie générale.	Henri VILLAT... † Mécanique des fluides et applications.
E. VESSIOT... † Mécanique analytique et Mécanique céleste.	Ch. JACOB... † Géologie.
A. COTTON... † Recherches physiques.	P. PASCAL... † Chimie minérale.
J. DRACH... † Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	M. FRÉCHET... † Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
Charles FABRY... † Enseignement de Physique.	E. ESCLANGON... † Astronomie.
Charles PÉREZ... † Zoologie.	M ^{me} RAMART-LUCAS † Chimie organique.
Léon BERTRAND. † Géologie structurale et géologie appliquée.	H. BEGHIN... † Mécanique physique et expérimentale.
P. PORTIER... † Physiologie comparée.	Foch... † Mécanique expérimentale des fluides.
E. RABAUD... † Biologie expérimentale.	PAUTHENIER... † Physique (P. C. B.)
M. GUICHARD... Chimie minérale.	DE BROGLIE... † Théories physiques.
Paul MONTEL... † Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	CHRÉTIEN... † Optique appliquée.
P. WINTREBERT. † Anatomie et histologie comparées.	P. JOB... † Chimie générale.
L. BLARINGHEM. † Botanique.	LABROUSTE... † Physique du globe.
O. DUBOSCQ... † Biologie maritime.	PRENANT... † Zoologie.
G. JULIA... † Application de l'analyse à la Géométrie.	VILLEY... † Mécanique physique et expérimentale.
C. MAUGUIN... † Minéralogie.	BOHN... † Zoologie (P. C. B.)
A. MICHEL-LÉVY † Pétrographie.	COMBES... † Botanique.
H. BÉNARD... † Mécanique expérimentale des fluides.	GARNIER... † Calcul différentiel.
A. DENJOY... † Calcul différentiel et calcul intégral.	PÉRÈS... † Mécanique des fluides.
L. LUTAUD... † Géographie physique et géologie dynamique.	HACKSPILL... † Chimie (P. C. B.).
Eugène BLOCH . † Physique théorique et physique céleste.	LAUGIER... † Physiologie générale.
G. BRUHAT... † Physique.	TOUSSAINT... † Technique aéronautique
E. DARMOIS... † Physique.	M. CURIE... † Physique (P. C. B.)
	G. RIBAUD... † Hautes températures.
	CHAZY... † Mécanique rationnelle.
	GAULT... † Chimie (P. C. B.)
	CROZE... † Physique.
	DUPONT... † Théories chimiques.
	LANQUINE... † Géologie.
	VALIRON... † Mathématiques.

Secrétaire A. PACAUD.

Secrétaire honoraire... D. TOMBECK.



A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A Monsieur PAUL CROUZET

Inspecteur de l'Académie de Paris

Inspecteur conseil au Ministère des Colonies

PRÉFACE

Avant d'aborder l'exposé de ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer toute ma respectueuse gratitude à M. le Professeur G. BERTRAND, membre de l'Institut, qui a bien voulu me guider et me prodiguer ses précieux conseils.

Je dois en grande partie ma formation intellectuelle dans l'étude des Sciences naturelles à M. le Professeur Ch. PÉREZ, qui, par une intelligente direction et un inlassable dévouement, m'a encouragée dans la voie des Recherches de Laboratoire. C'est d'un cœur bien sincère, que je lui exprime ma gratitude et que je le remercie de l'honneur qu'il a bien voulu me faire encore en acceptant la présidence de ma thèse.

Je remercie bien sincèrement M. le Professeur PORTIER et Monsieur le Professeur R. LÉVY d'avoir bien voulu accepter de faire partie du Jury de ma thèse.

Mon ami, Monsieur le Docteur A. MACHEBŒUF, Chef de service à l'Institut Pasteur, m'a consacré une bonne part de sa grande activité et m'a prodigué l'appui de son amitié solide et agissante et celui de sa haute compétence alliée à la sûreté de son jugement. Je le remercie de tout cœur de m'avoir accueillie dans son Laboratoire et de m'avoir conseillée largement dans la mise au point de ce travail. Qu'il soit assuré de mon amitié fidèle et dévouée.

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder le corps de notre sujet, il nous paraît indispensable de souligner rapidement l'esprit dans lequel nous l'avons traité.

Dans un premier chapitre, nous envisageons les raisons déterminantes qui nous ont poussée, sur l'instigation de nos Maîtres, Monsieur le Professeur Gabriel BERTRAND et M. le Docteur M.-A. MACHEBŒUF, à étudier les variations des protéides, des lipides et des stérols du sérum sanguin sous l'influence des saignées.

Puis, dans une brève revue bibliographique, nous avons analysé les travaux modernes touchant de près ce sujet.

Dans une étude expérimentale, nous avons enfin étudié par de multiples analyses, suivant les méthodes les plus récentes, les variations du taux des protéides, des lipides et des stérols du sérum sanguin de divers animaux.

Nous nous excusons de l'aridité des tableaux de chiffres fournis par nos recherches, mais nous tenons à les publier intégralement pour leur laisser toute leur objectivité et faciliter les recherches ultérieures dans cette voie. Nous nous efforcerons de souligner l'intérêt que ces variations présentent à nos yeux ; enfin, nous croyons, de ces données, pouvoir tirer des conclusions et formuler des hypothèses visant la pathologie générale et notamment l'étude des moyens de défense de l'organisme contre les hémorragies.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

L'organisme des mammifères est capable de survivre à une perte de sang abondante ; il peut même survivre à une série de pertes sanguines successives et assez abondantes. De nombreux auteurs se sont attachés à étudier la régénération des globules rouges à la suite des hémorragies et de très intéressants résultats ont été obtenus, mais les éléments figurés ne sont pas les seuls éléments que l'organisme ait à régénérer après une hémorragie. Chaque perte de sang correspond à une perte de plasma, donc à une perte de protéides et de graisses. On sait aujourd'hui depuis les travaux de STARLING, de GOWAERTS et de divers autres savants, que les protéides plasmatiques jouent un rôle primordial dans la régulation des échanges d'eau et de sels entre le sang et les tissus au niveau des capillaires ; on sait en outre, depuis les travaux de MACHEBŒUF et SANDOR, que certains lipides plasmatiques interviennent également dans la régulation de ces échanges.

Toute hémorragie abondante s'accompagne d'une perte très notable en protéides et en lipides plasmatiques et de nombreux travaux sont encore à faire avant que nous connaissions comment l'organisme peut réparer ces pertes. Dans quelle mesure l'organisme est-il capable de maintenir constante la teneur de son plasma en lipides et en protéides divers ? Dans quelle mesure et avec quelle rapidité peut-il réparer ses pertes ? Quels sont les organes qui concourent à la régénération des protéides et des lipides plasmatiques et par quelles voies ces substances

sont-elles déversées dans le plasma ? Ces problèmes et bien d'autres connexes sont encore loin de leur solution.

Le but du présent travail était d'aborder l'un de ces problèmes : quelles sont les modifications chimiques et physico-chimiques apportées au sérum sanguin, quelles sont surtout les variations de teneurs en ses divers protéides et en ses divers lipides occasionnées par des hémorragies plus ou moins abondantes et répétées à des intervalles de temps divers.

Nous espérons ainsi nous rendre compte de la capacité de régénération de l'organisme et de la vitesse de cette régénération. Nous cherchions aussi à savoir dans quelles mesures l'organisme peut maintenir constante la teneur de son sérum sanguin en protéides et en lipides et la constitution physico-chimique de ceux-ci.

ÉTUDE HISTORIQUE

L'étude des réactions physico-chimiques et biologiques que déterminent dans l'organisme les saignées répétées, est très intéressante pour la biologie et la pathologie.

En biologie générale, cette étude contribue à élucider :

1° Le problème du lieu et du mécanisme de la formation des constituants histologiques et chimiques du tissu sanguin ;

2° Le rôle des constituants colloïdaux du tissu sanguin dans certaines fonctions organiques, comme l'échange de l'eau entre les tissus et le sang, et l'équilibre d'hydratation des tissus. (Théorie de STARLING et de GOVAERTS (1), (2).

En pathologie générale, cette étude peut nous donner des renseignements sur l'étiologie de nombreux états pathologiques causés par une déperdition continue de plasma sanguin ou de sang (les épanchements des grandes cavités ponctionnées à différentes reprises, les cancers ou les ulcères viscéraux, qui donnent naissance à des hémorragies répétées, etc.).

C'est dans le but de contribuer à l'élucidation de ces problèmes, que nous avons entrepris l'étude détaillée des saignées répétées. Nous avons étudié en particulier les variations du taux des protéides et des graisses du sérum sanguin, mais au lieu d'étudier seulement la teneur globale du sérum en graisses et protéides, nous avons étu-

(1) E.H. STARLING. — *Journal of Physiol.*, 1896, 19, 312.

(2) P. GOVAERTS. — *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, 678 et 680 ; 1924, 90, 969 et 91, 116 ; 1925, 93, 441 ; *Bull. Soc. Méd. Belgique*, 1924 n° 3.

dié séparément les globulines, les albumines, ainsi que les graisses qui précipitent respectivement avec chacune de ces fractions.

HARDY (1), HASLAM (2), H. CHICK (3), HANDOWSKY et WAGNER (4), TROENSEGAARD et KOUDAHN (5), M.-A. MACHEBŒUF (6), ont démontré que les différentes fractions des protéides sériques renferment dans leurs précipités des graisses, et ces auteurs ont fait l'étude détaillée de la constitution de ces graisses.

M.-A. MACHEBŒUF (*loc. cit.* (6)) a démontré que, pratiquement, la totalité des graisses du sérum est entraînée en précipitation réversible avec les protéides du sérum.

M.-A. MACHEBŒUF, R. WAHL et G. SANDOR (7) ont fait une étude détaillée de la constitution des graisses qui précipitent séparément avec les globulines et les albumines, chez l'homme sain ou malade.

L'étude de la teneur en graisses et de la constitution de ces graisses est encore intéressante à deux points de vue. Mlle FISCHBERG (8) a trouvé que chez le lapin soumis à des saignées répétées, le taux des protéides baisse et celui des lipides augmente.

M.-A. MACHEBŒUF et G. SANDOR (9) ont démontré que les lipides du sérum augmentent l'effet tampon et l'ionisation des protéides sériques : ils interviennent donc dans

(1) HARDY. — *Journal Physiol.*, XXXIII, 251, 1905.

(2) HASLAM. — *Bioch. Journ.*, VII, 492, 1913.

(3) CHICK. — *Bioch. Journal*, VIII, 404, 1914.

(4) HANDOWSKY et WAGNER. — *Bi. Zeitscher*, XXI, 92, 1911.

(5) TROENSEGAARD et KONDAHL. — *H. S. Z. Journ. Physiol. Chimie*, 153, III, 1926.

(6) M.-A. MACHEBŒUF. — *Bull. Soc. Chimie Biologique*, 1929, II, 268 et 485.

(7) M.-A. MACHEBŒUF, R. WAHL et G. SANDOR. — *Bull. Soc. Chimie Biologique*, 1931, 13, 504.

(8) E.-H. FISCHBERG. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1929, 81, 205.

(9) M.-A. MACHEBŒUF et SANDOR. — *Bull. Soc. Chim. Biologique*, 1931, 13, 745.

l'équilibre de DONNAN, en augmentant la pression osmotique apparente des protéïdes.

Dans la théorie de GOVAERTS et de STARLING (*loc. cit.*) c'est la valeur de la pression osmotique apparente des protéïdes du sérum qui règle l'équilibre d'hydratation des tissus.

Les travaux de M.-A. MACHEBŒUF et G. SANDOR montrent donc que les graisses peuvent jouer un rôle dans le métabolisme aqueux de l'organisme.

La constitution de ces graisses peut aussi avoir une importance. MAYER et SCHAEFFER (1) R. BRINKMANN et E. VAN DAMM (2) ont en effet démontré que dans l'hydratation des tissus, il y a un antagonisme entre les stérols et les lécithides. R. DEQKWITZ (3) a prouvé que cet antagonisme lipoïdique a une action plus générale et que le taux des stérols ou celui des lécithides influe profondément sur toutes les fonctions organiques.

Les troubles de constitution humorale que l'on observe dans certaines affections comme les néphrites, les insuffisances hépatiques, les anémies, sont-ils explicables tout simplement par le fait que dans ces affections il y a une déperdition des protéïdes du sérum ?

A ce sujet, la littérature nous donne des renseignements contradictoires. Certains auteurs ont trouvé que les déperditions protéïdiques amènent une hypoprotéïdémie. Ainsi KERR (4), LEITER (5), BARKER et KERR (6), FISHBERG et FISHBERG (7), PETERS et VAN SLYKE, WILLIAM

(1) A. MAYER et G. SCHAEFFER. — *Journ. de Physiol. et de Path. gén.* 51, 1, 1914.

(2) R. BRINKMANN et VAN DAM, — *Bioch. Zeitscher.*, 108, 1920.

(3) R. DEQKWITZ. — *Ergebnisse der Physiologie*, 32, 821, 1931.

(4) KERR. — *Am. Journ. Physiol.*, 47, 356 1918-1919.

(5) LEITER. — *Arch. Int. Med.*, 48, 1, 1931.

(6) BARKER et KERR. — *Arch. Int. Med.*, 45, 319, 1930.

(7) FISHBERG et FISHBERG. — *Proc. Soc. Exp. Biol. and, Med.*, 25, 296. 1928).

et WILLKIN (1), WEECK et LINES (2), KOLMANN (3), FRISCH, MENDEL et PETERS (4), SHELBURM et EGLOFF (5) produisent une hypoprotéïdémie accusée par des saignées répétées et abondantes. Ces expériences confirmeraient ainsi les théories admises en pathologie suivant lesquelles les diverses hypoprotéïdémies pathologiques (mal de BRIGHT, œdèmes de guerre, etc...) seraient la conséquence d'une déperdition des protéïdes du sérum ou d'une insuffisance d'absorption d'aliments azotés.

Cependant d'autres auteurs trouvent que les individus normaux ont une faculté extraordinaire de récupération de leurs protéïdes sériques ; des saignées très abondantes et répétées, des régimes très insuffisants en aliments azotés, consommés même pendant très longtemps, seraient incapables de produire une modification notable de la teneur en colloïdes du sérum : BARNETT, JONES et COHN (6), HANSON (7), BURKHARDT (8), BLOOMFIELD (9).

Même pour les cas pathologiques, la relation entre les déperditions protéïdiques et la baisse de la teneur en protéïdes des humeurs est loin d'être constante. Malgré des déperditions considérables, la teneur en protéïdes du sérum tendrait à se stabiliser à un certain taux chez ces malades (voir en particulier PETERS et BULGER (10).

Ainsi de multiples problèmes se posent et restent encore à résoudre. Si des troubles fonctionnels graves accompagnent souvent les déperditions humorales abondantes, il

(1) PETERS et VAN SLYKE. — *Quant Clinical-chemistry*, William et Willkin, éditeurs, J. Ballimore, 1931.

(2) WEECK et LINES. — *Journ. Clin. In.*, 10, 869, 1931.

(3) KOLMANN. — *Am. Journ. Physiol.*, 5, 1, 378 1920.

(4) FRISCH, MENDEL et PETERS. — *Journ. Biol. Chem.*, 84, 167, 1929.

(5) SHELBURM et EGLOFF. — *Arch. Int. Med.*, 48, 51, 1931.

(6) BARNETT, JONES et COHN. — *Journ. Exp. Med.*, 56, 683, 1932.

(7) HANSON. — *Journ. In.*, 3, 67, 1918.

(8) BURKHARDT. — *Arch. Exp. Path. et Pharma.*, 16, 332, 1882-83.

(9) BLOOMFIELD. — *Journ. Exp. Med.*, 57, 705, 1933.

(10) PETERS et BULGER. — *Arch. Int. Med.*, 37, 153, 1926.

reste à savoir si ces déperditions humorales ont une répercussion notable sur la constitution des humeurs, ou s'il ne faudrait pas admettre l'existence d'autres causes pour expliquer ces syndromes.

Quelques auteurs ont étudié les variations des lipides plasmatiques au cours des hémorragies.

BOGGS et MORRIS (1) trouvent que les saignées répétées et abondantes produisent chez les lapins une lipémie accusée. Ils supposent que cette lipémie résulte de la perte des protéïdes des tissus et de la diminution des oxydations résultant de l'anémie.

FEIGL (2) trouve une lipémie chez l'homme après de graves hémorragies.

SAKAI (3), HORINCHI (4), BLOOR (5), saignent neuf lapins tous les jours, par incisions de l'oreille, de 30 à 35 cc. de sang à peu près et ils dosent dans le sérum obtenu à partir de ce sang la teneur en sucre, en protéïdes totaux, en albumines, en globulines, en cholestérol et en graisses totales. Les animaux maintiennent la constitution de leur plasma à peu près constante jusqu'aux sixième et septième saignées : après, il y a une diminution notable et progressive de la teneur en protéïdes et une augmentation considérable de la teneur en lipides totaux et cholestérol. Les globules rouges diminuent considérablement. Les auteurs observent que l'augmentation des graisses suit la diminution des protéïdes et non l'anémie.

L'augmentation du cholestérol est moins notable que celle des lipides totaux.

Les albumines diminuent plus vite que les globulines.

Les auteurs émettent l'hypothèse que :

(1) BOGGS et MORRIS. — *Journ. Exp. Med.*, 11, 553, 1909.

(2) FEIGL. — *Bioch. Zeitschr.*, 115, 63, 1918.

(3) SAKAI. — *Bioch. Zeit.*, 62, 387, 1914.

(4) HORINCHI. — *Journ. Biol. Chem.*, 44, 363, 1920.

(5) BLOOR. — *Journ. Biol. Chem.*, 49, 201, 1921.

La mobilisation des graisses qui suit la diminution des protéïdes serait la manifestation de la réaction de l'organisme pour relever la pression osmotique des colloïdes des humeurs.

D'autres auteurs étudient les phénomènes cytologiques accompagnant les hémorragies.

On peut trouver dans la thèse de Th. THEODORIDES (1), une liste bibliographique détaillée de ces travaux. Ce point de vue est différent du nôtre, mais nous avons eu l'occasion de vérifier au cours de notre travail les résultats de Th. THEODORIDES en ce qui concerne les variations du nombre des hématies au cours des saignées.

Th. THEODORIDES a étudié la « Régénération du sang à la suite des hémorragies ». Ses expériences ont porté sur 46 lapins et 17 chiens. Sur la plupart de ces animaux l'auteur a étudié les modifications du sang périphérique, au point de vue histologique, soit après une saignée, soit après des saignées répétées.

Après une saignée importante chez le lapin et le chien, dans les 24 heures, les modifications sont purement quantitatives. Après 24 heures, ces modifications sont à la fois quantitatives et qualitatives.

L'auteur n'a jamais pu établir une anémie persistante aussi bien chez le chien que chez le lapin par des soustractions sanguines même très importantes et de longue durée.

Par des saignées répétées il est arrivé à déshémoglobiniser l'animal, mais n'a jamais obtenu une chute du nombre des globules rouges au-dessous de un million.

Une fois les saignées terminées les globules rouges et l'hémoglobine remontaient, mais ceci n'empêchait pas les animaux de mourir.

(1) Théodore THEODORIDES. — Thèse, Faculté des Sciences de Paris, 1931.

L'auteur conclut que l'anémie obtenue après des saignées répétées et très copieuses ne ressemble pas à l'anémie pernicieuse. Les caractéristiques de celle qu'il a provoquée par les hémorragies sont : nombre de globules rouges au-dessus de 1 million ; taux de l'hémoglobine extrêmement bas ; valeur globulaire très basse ; nombre de globulins augmenté ; leucocytose très forte et durable avec prédominance de polymorphonucléaires.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Nous avons effectué deux expériences types.

a) Dans une première série d'expériences, nous avons saigné nos animaux à des intervalles très rapprochés (tous les deux jours). Nous avons effectué des saignées relativement peu abondantes, mais sans laisser à l'animal le temps de récupérer une constitution sanguine normale.

b) Dans une deuxième série d'expériences, nous avons effectué des saignées abondantes à de grands intervalles, en laissant à l'animal le temps de récupérer, après un repos suffisant, une constitution histologique sanguine normale. Nous avons vérifié « la récupération » par des numérations globulaires et nous avons attendu, pour effectuer une prochaine saignée, que le nombre des globules rouges par mmc. soit remonté à sa valeur primitive.

1° PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Le sérum est recueilli aussi frais que possible sans hémolyse et parfaitement débarrassé des hématies.

Séparation des globulines

Les globulines sont précipitées par addition d'un volume égal d'une solution saturée et parfaitement neutre de sulfate d'ammonium, puis séparées par centrifugation. La solution albumineuse obtenue doit être parfaitement limpide.

Lors de leur précipitation, les globulines entraînent toujours une quantité notable d'albumine qu'il est facile de récupérer en redissolvant les globulines dans le plus petit volume d'eau possible, puis en les précipitant à nouveau par un volume de solution saturée de sulfate d'ammonium égal au volume de l'eau employée pour la redissolution. Les globulines précipitées sont séparées par centrifugation d'une eau mère contenant les albumines entraînées au cours de la première précipitation. La solution albumineuse ainsi obtenue est réunie à la première ; l'ensemble constitue la solution mère des albumines.

Précipitation de l'ensemble des albumines

a) Ajouter aux eaux-mères des globulines la quantité suffisante de solution saturée de sulfate d'ammonium pour provoquer l'apparition d'un louche léger, persistant à l'agitation.

**

b) Acidifier à pH 3,7 par la quantité d'acide sulfurique normal au 1/5. Après agitation et repos de 20 minutes, un abondant précipité un peu teinté de jaune est recueilli par centrifugation.

Les globulines et les albumines, une fois précipitées et séparées de leurs eaux-mères, sont mises séparément en solution par quelques c.c. d'eau distillée (4 à 5 c.c.) et quelques gouttes d'ammoniaque ; puis coagulées par un excès d'alcool à chaud.

Extraction des lipides

Les protéïdes des globulines, comme ceux des albumines, une fois coagulés par un excès d'alcool à chaud sont placés dans un appareil de Kumagawa pour en extraire les lipides par l'alcool bouillant pendant huit heures, puis ensuite par l'éther bouillant pendant deux heures.

Les solutions alcooliques et éthérées sont évaporées dans le vide ; les résidus desséchés sont repris par l'éther anhydre et les solutions filtrées sont recueillies dans une fiole de Fourneau tarée.

On évapore ensuite ces solutions sous un courant d'azote sur une platine chauffante et les fioles sont portées au dessiccateur à vide en présence d'acide sulfurique.

Au bout de vingt-quatre et quarante-huit heures les fioles sont pesées à la balance de précision et par soustraction de la tare on obtient le poids des lipides.

Les protéïdes des globulines comme ceux des albumines ainsi débarrassés de leurs lipides sont introduits dans des filtres d'Iéna tarés, on les lave plusieurs fois à l'eau bouillante pour éliminer les sels entraînés lors des précipitations par le sulfate d'ammonium ; les filtres, avec leur contenu, sont alors portés à l'étuve et desséchés jusqu'à poids constant. Par soustraction de la tare, on obtient les poids de protéïdes.

Sur les lipides obtenus comme il est dit précédemment nous avons effectué :

a) Un dosage de phosphore par la méthode proposée par M. A. MACHEBŒUF (1).

b) Une saponification quantitative suivant la méthode de LEMELAND (2).

c) Sur l'insaponifiable obtenu par la méthode de LEMELAND, nous avons fait un dosage de cholestérol, d'après la méthode de CAMINADE (3) au moyen de digitonoside.

Pour ces différents dosages, nous avons divisé les lipides en deux portions, l'une étant utilisée pour le dosage du phosphore ; l'autre pour la saponification et le dosage du cholestérol.

Dosage du phosphore suivant la méthode de M.-A. Machebœuf

Après la pesée de la prise d'essai, les matières organiques sont détruites par chauffage prolongé avec 1 c. c. exactement mesuré d'acide sulfurique et 1 c. c. environ d'acide nitrique fumant. Si l'acide nitrique s'élimine complètement avant que toutes les matières organiques soient détruites, le liquide brunit, puis noircit, il faut aussitôt éteindre la flamme, laisser refroidir et ajouter un peu d'acide nitrique, puis chauffer à nouveau. On évite ainsi toute perte possible de phosphore par chauffage en présence de charbon dans un milieu peu oxydant. Lorsque, après le départ des vapeurs nitreuses, le liquide reste incolore, la destruction est terminée.

Le dosage de l'acide phosphorique est effectué sur le résidu, en voici le principe :

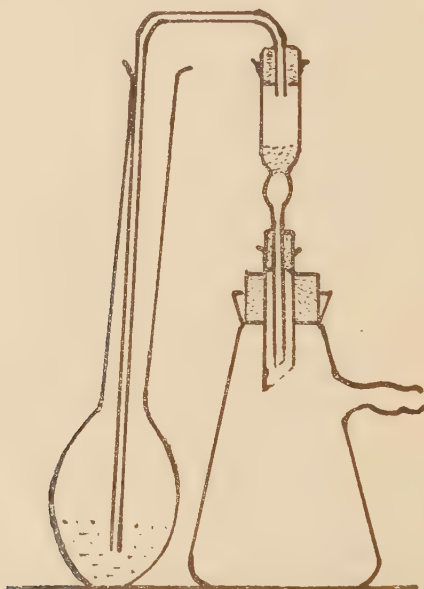
(1) M.-A. MACHEBŒUF. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, 8, 464.

(2) LEMELAND. — *Bull. Soc. chim. biol.*, 1922, 4, 300 et 1923, 5, 110.

(3) CAMINADE. — *Bull. Soc. chim. biol.*, 1922, 4, 661.

1° Hydrolyse des pyrophosphates qui ont pu se former pendant la destruction des matières organiques.

2° Précipitation de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate d'ammonium dans des conditions déterminées toujours identiques : mêmes concentrations en tous les réactifs, mêmes conditions de chauffe pour que la constitution du précipité soit toujours comparable et sa teneur en ammoniaque rigoureusement parallèle à la quantité de phosphore.



3° Addition d'alcool en petite quantité pour abaisser la tension superficielle et éviter le « grimpage » du précipité.

4° Séparation du précipité par filtration sur un petit filtre d'amiante muni d'un siphon aspirateur évitant les pertes possibles par transvasement (voir schéma ci-contre).

5° Lavages répétés et soigneux au moyen d'alcool à 50°.

6° Dissolution du phosphomolybdate d'ammonium dans un excès d'une solution diluée d'ammoniaque (environ deux fois normale).

7° Ebullition en présence d'un excès d'une solution normale de soude au 1/25^e ajoutée en quantité connue. L'ammoniac en excès est chassé par l'ébullition et l'ammoniac combiné à l'état de phosphomolybdate est déplacé par la soude et chassé également par l'ébullition.

8° Addition d'un volume d'acide sulfurique normal au 1/25^e rigoureusement correspondant à la soude utilisée dans l'opération précédente.

9° Ebullition pour chasser le gaz carbonique.

10° Titrage à chaud par de la soude normale au 1/25^e de l'excès d'acide en présence de phénolphthaléine. Le volume de solution de soude utilisé pour ce titrage correspond à la soude qui a servi à déplacer l'ammoniac combiné à l'état de phosphomolybdate.

1 c. c. de soude normal au 1/25^e correspond à 0 milligr. 0.448 de phosphore.

Pour 1 milligramme de phosphore, il faut donc 22,32 c. c. de solution titrée, le virage étant très sensible ; la méthode est très précise.

Saponification suivant la méthode de Lemeland. Dosage des acides gras et de l'insaponifiable total.

Pour la saponification nous avons toujours réservé au moins 25 milligrammes de lipides, généralement plus, que nous avons placés dans une petite fiole surmontée d'un réfrigérant à reflux. On ajoute aux lipides une dizaine de c. c. d'une solution alcoolique fraîche de potasse contenant à peu près 70 gr. de potasse par litre. Le liquide est maintenu à l'ébullition pendant deux heures. Lorsque la saponification est terminée, le liquide est versé dans

une boule à décantation, on rince la fiole à plusieurs reprises avec chaque fois 2 ou 3 c.c. d'alcool à 90° chaud et l'on réunit ces alcools de lavage à la solution primitive dans la boule à décantation.

On rince enfin la fiole avec une vingtaine de c.c. d'éther de pétrole (1) que l'on verse également dans la boule à décantation qui contient la solution alcoolique. L'alcool fort et l'éther de pétrole étant miscibles, il se fait une phase unique alcool-éther de pétrole. On laisse bien refroidir, puis on ajoute un volume d'eau distillée égal à celui de l'alcool (2), il se sépare immédiatement deux phases: l'une surnageante est formée par de l'éther de pétrole tenant en dissolution le cholestérol et les substances insaponifiables, l'autre phase sous-jacente de nature hydro-alcoolique contient les acides gras à l'état de savons.

On soutire la phase hydro-alcoolique dans une deuxième boule à décantation où on la lave à nouveau par agitation avec une quinzaine de c.c. d'éther de pétrole que l'on sépare par décantation et réunit dans la première solution éthéropétrolique.

Dans cet ensemble d'éther de pétrole est tout l'insaponifiable, on lave la solution éthéropétrolique en l'agitant dans la boule avec quelques c.c. d'eau alcoolisée. L'éther de pétrole est enfin placé dans une fiole de Fourneau tarée, où on l'évapore doucement sous courant d'azote sur une platine chauffante électrique chauffée vers 60°.

On place ensuite la fiole dans un dessiccateur à vide où on la laisse jusqu'à poids constant. On obtient ainsi *le poids de l'insaponifiable total* dans lequel nous doserons plus tard le cholestérol par la méthode de CAMINADE (voir ci-dessous).

(1) Bien rectifié et bouillant entre 30 et 50° C.

(2) L'eau ajoutée ici est au préalable passée dans la fiole où eut lieu la saponification afin d'en terminer le rinçage.

Pour *doser les acides gras* nous avons rassemblé dans une des deux boules à décanter toutes les solutions hydro-alcooliques séparées de l'éther de pétrole, nous les avons acidifiées, puis diluées par un égal volume d'eau et épuisées par de l'éther ordinaire. Cet éther fut lavé par agitation avec un peu d'eau, puis évaporé dans une fiole tarée que l'on pesait ensuite après dessiccation des acides gras dans le vide.

Dosage du cholestérol, d'après la méthode de Caminade

L'insaponifiable est repris à chaud par le solvant hydro alcool-acétonique de CAMINADE, puis additionné de la quantité calculée de solution de digitinoside à 0,5 % dans ce même solvant. Le complexe de WINDAUS est recueilli, lavé, séché et pesé. On calcule le poids du cholestérol d'après le poids de complexe de WINDAUS obtenu en multipliant ce poids par 0,25.

2° RÉSULTATS DES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

A) Saignées pratiquées à des intervalles très rapprochés sur les animaux suivants :

1) MOUTON DE 50 KILOS ENVIRON, vérifié sain. L'animal est saigné par ponctions de la veine jugulaire tous les deux jours ; saignées d'environ 200 c.c. chaque fois. Il s'affaiblit progressivement et meurt après la septième saignée. A l'autopsie, on trouve des organes exsangues avec de légers signes de choc.

Les opérations successives pratiquées sur chacune des saignées nous ont donné les résultats suivants que nous avons groupés dans un tableau d'ensemble exprimé en grammes par litre de sérum (*voir tableau 1*).

Le simple calcul des teneurs des divers constituants par litre peut fournir des résultats troublés par les différences de dilution que peut subir le sang chez l'animal. Nous avons donc calculé les rapports quantitatifs des divers constituants entre eux, ceux-ci ayant été totalisés pour l'ensemble globulines + albumines. (*Voir tableau 2*).

TABLEAU I

Albumines et Lipides qui les accompagnent

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée
Albumines..	40,9	39,3	38,0	35,2	35,8	36,6	32,3
Lipides.....	1,51	1,52	1,64	1,55	0,94	1,08	1,43
Acide gras..	0,68	0,87	0,87	1,11	0,65	0,68	1,04
Insaponi- fiable....	0,51	0,42	0,43	0,26	0,25	0,20	0,33
Cholestérol.	0,211	0,208	0,215	0,128	0,149	0,099	0,116
Phosphore lipidique..	—	0,034	0,013	—	0,009	0,011	0,006

Globulines et Lipides qui les accompagnent

Globulines..	30,2	27,6	30,0	28,6	28,5	31,2	38,2
Lipides	1,28	0,76	0,97	0,92	0,72	0,42	0,89
Acides gras.	0,84	0,45	0,59	0,62	0,36	0,25	0,58
Insaponi- fiable....	0,39	0,24	0,20	0,27	0,26	0,14	0,30
Cholestérol.	0,150	0,074	0,095	0,130	0,150	0,034	0,099
Phosphore lipidique..	0,011	0,006	0,008	0,006	0,002	0,002	—

Du tableau N° 1 on peut déduire par calcul les teneurs globales en protéides et lipides totaux

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée
Protéides totaux.....	71	67	68	63,8	64,3	67,8	70,5
Lipides totaux.....	2,79	2,28	2,61	2,47	1,66	1,50	2,32
Insaponifiable total.	0,9	0,66	0,63	0,53	0,51	0,31	0,63

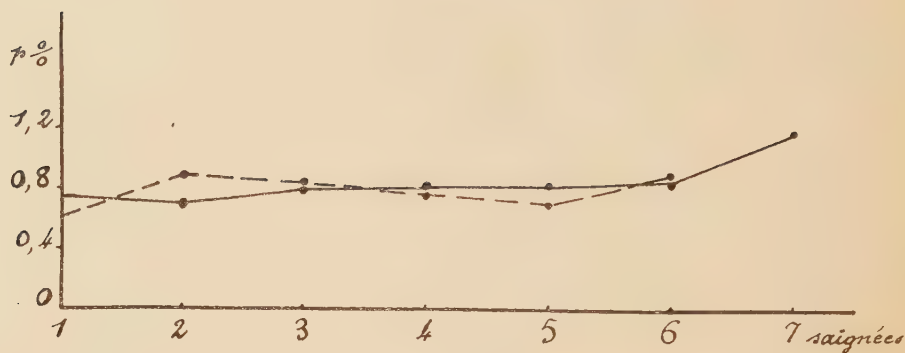
TABLEAU II

Rapports	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée
Globulines /Albumines.....	0,74	0,70	0,8	0,81	0,8	0,85	1,17
Lipides p. 100 gr. de Protéides totaux.....	3,9	3,1	3,8	3,9	2,6	2,2	3,3
Cholestérol p. 100 gr. de lipides	13,1	11,8	10,7	10,5	11,1	8,8	9,7
Cholestérol p. 100 gr. d'insaponifiable.....	10,3	10,	46,5	50,1	58	35	33,
Insaponifiable p. 100 gr. de lipides.....	32,	29,3	24,4	21,5	30,7	22,7	27,2
Acides gras p. 100 gr. de lipides.....	51,6	58,	56	70,3	60,4	60,7	70,
Phosphore p. 100 gr. de lipides	0,61	0,89	0,83	—	0,69	0,87	—

L'ensemble de ces résultats est schématisé par les courbes suivantes :

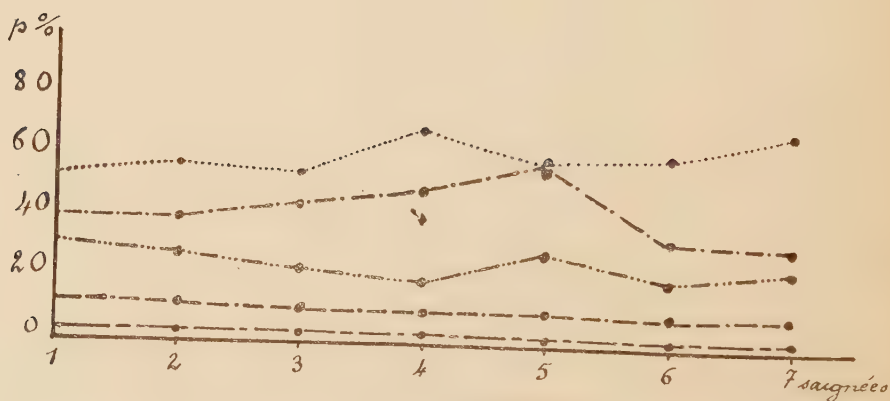
En abscisses sont portées les saignées représentées conventionnellement par des points équidistants.

En ordonnées sont portées les valeurs des rapports centésimaux exprimant les teneurs proportionnelles de deux constituants du sérum.



Variations des rapports :

- Globulines
- Albumines
- - - Phosphore
- - - Lipides



Variations des rapports :

- Acides Gras
- Cholestérol
- - - Lipides
- - - Cholestérol
- - - Lipides
- - - Lipides
- - - Lipides
- - - Lipides

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Nous devons tout d'abord noter que la septième saignée fut effectuée au cours de l'agonie de l'animal ; nous devons donc considérer à part les résultats qu'a fournis l'analyse du sérum obtenu par cette saignée.

Si nous examinons donc les résultats obtenus pour les six premières saignées, nous constatons que :

1° *La teneur en globuline varie très peu* (elle tend simplement à s'élever un peu à la septième saignée).

2° *La teneur en albumine diminue régulièrement* ; ceci nous permet déjà de conclure que l'animal a maintenu plus facilement constant le taux des globulines que celui des albumines.

3° *La teneur en lipides totaux diminue progressivement et assez régulièrement au cours des six saignées.*

Ce résultat est contraire à celui obtenu par Mlle FISHBERG sur le lapin.

4° *La teneur en insaponifiable total diminue très sensiblement.*

Ce résultat est particulièrement intéressant.

5° *Les teneurs en phosphore lipidique total ne varient pas régulièrement, tandis que la quantité de phosphore lipidique accompagnant les globulines diminue notablement et assez régulièrement.*

6° *Il est très intéressant de noter ici que le rapport entre les lipides totaux et les protéides totaux diminue très fortement, tandis que les conclusions de Mlle FISHBERG étaient diamétralement opposées.*

II) MOUTON DE 45 KILOS ENVIRON, vérifié sain. Nous avons opéré dans les mêmes conditions que précédemment : saignée tous les deux jours et d'environ 200 c. c.

L'animal cette fois n'a pas succombé et nous avons pu

pratiquer dix saignées (1). Nous donnerons ici les résultats des huit premières saignées. L'animal semble bien se comporter mais les numérations globulaires nous révèlent une diminution progressive du taux des globules rouges qui passe de 14.500.000 à 6.100.000 pour la dixième saignée : en voici le tableau :

Saignées	Dates	Taux globulaire
1	2 Juin	14.500.000
2	4 Juin	12.900.000
3	6 Juin	11.500.000
4	8 Juin	11.000.000
5	10 Juin	12.000.000
6	14 Juin	16.000.000
7	16 Juin	7.000.000
8	21 Juin	13.000.000
9	24 Juin	6.450.000
		7.500.000 avant saignée
10	1 ^{er} Juillet	6.100.000 après saignée

Nous donnons ci-après les résultats des analyses successives pratiquées sur chacune des huit premières saignées, groupés dans un tableau d'ensemble et exprimés en grammes par litre de sérum. (*Voir tableau 3*).

Le simple calcul des teneurs des divers constituants par litre peut fournir des résultats troublés par les différences de dilution que peut subir le sang chez l'animal. Nous avons donc calculé les rapports quantitatifs des divers constituants entre eux, ceux-ci ayant été totalisés pour l'ensemble globulines + albumines. (*Voir tableau 4*).

(1) Nous avons attendu plus de deux jours parfois, entre les saignées postérieures à la cinquième.

TABLEAU III

Albumines et Lipides qui les accompagnent

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Albumines...	42,5	39,17	45	37,6	37,2	41,3	38,17	39,8
Lipides.....	1,44	1,45	1,4	1,33	1,33	1,18	1,02	1,08
Acides gras..	0,72	0,80	0,75	0,78	0,75	0,56	0,64	0,73
Insaponifiable.....	0,43	0,39	0,51	0,50	0,40	0,44	0,26	0,26
Cholestérol ..	0,170	0,198	0,266	0,186	0,276	0,206	0,176	0,176
Phosphore...	0,0328	0,0205	0,0173	0,0162	0,020	0,0193	0,0168	0,0176

Globulines et Lipides qui les accompagnent

Globulines...	34,8	28,6	35,75	32,3	34,7	35,2	27,8	35,14
Lipides.....	0,62	0,56	0,84	0,62	0,58	0,47	0,43	0,50
Acides gras..	0,34	0,33	0,47	0,36	0,35	0,26	0,24	0,30
Insaponifiable.....	0,21	0,21	0,24	0,21	0,20	0,15	0,15	0,13
Cholestérol ..	0,126	0,088	0,191	0,108	0,123	0,109	0,085	0,091
Phosphore...	0,004	0,003	0,00576	0,00373	0,00242	0,00224	0,0032	0,00392

Du tableau N° 3 on peut déduire par calcul les teneurs globales en protéides et lipides totaux

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e s.ignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Protéides totaux	77,3	67,8	80,8	70,0	71,9	76,5	66,0	75,0
Lipides totaux	2,03	2,01	2,24	1,95	1,91	1,65	1,45	1,58
Insaponifiable total...	0,64	0,60	0,75	0,71	0,60	0,59	0,41	0,39

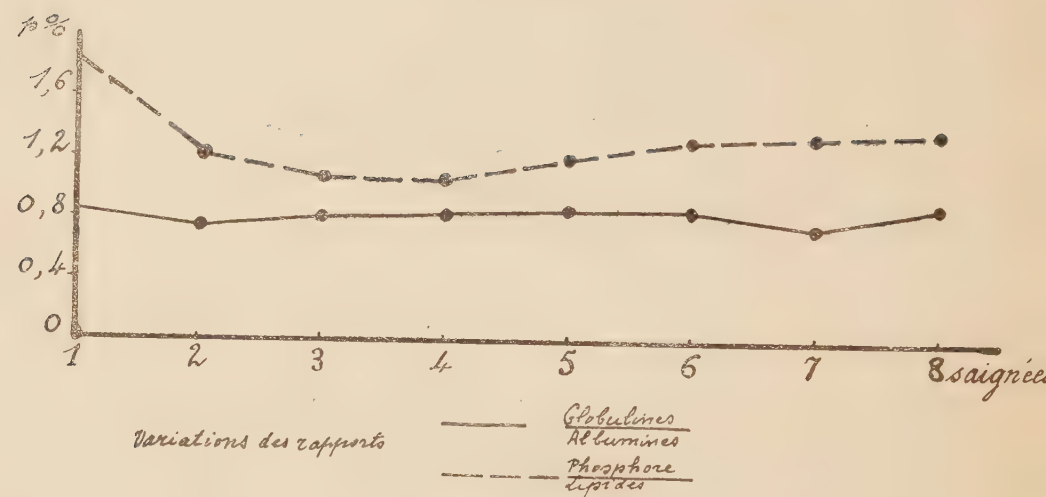
TABLEAU IV

Rapports	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Globulines/Albumines.	0.82	0.73	0.80	0.86	0.94	0.85	0.72	0.88
Lipides/Protides p.100	2,6	2,9	2,7	2,7	2,6	2,2	2,1	2,1
Cholestérol/Lipides p. 100	11	14	20	15	21	19	18	17
Cholestérol / Insaponifiable p. 100	46	48	61	41	66	53	63	68
Insaponifiable / Lipides p. 100	31	30	33	36	31	36	28	24
Acides Gras / Lipides	52	56	54	58	57	50	47	65
Phosphore / Lipides totaux p. 100	1.8	1.2	1.02	1.02	1.20	1.31	1.37	1.36

L'ensemble de ces résultats est schématisé par les courbes suivantes :

En abscisses sont portées les saignées représentées conventionnellement par des points équidistants.

En ordonnées est portée la valeur des rapports centésimaux exprimant les teneurs proportionnelles de deux constituants du sérum.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

En observant les rapports des différents constituants nous notons comme chez le premier mouton :

1° Une faible augmentation du rapport $\frac{\text{glob.}}{\text{album.}}$ et une faible diminution du rapport $\frac{\text{lipides.}}{\text{protides}}$

2° Le rapport $\frac{\text{cholest.}}{\text{lip. totaux}}$ augmente faiblement, tandis que le rapport $\frac{\text{insap. total}}{\text{lip. total}}$ tend plutôt à diminuer. Il en résulte que :

Le rapport $\frac{\text{cholest. tot.}}{\text{insap. total}}$ subit une augmentation régulière et sensible.

3° La teneur en phosphore des lipides totaux diminue, tandis que leur teneur en acides gras augmente.

La teneur en glycérides du sérum tend donc à augmenter, et la teneur en phosphatides diminue.

III) LAPIN DE 2 KILOS 400. Nous avons saigné l'animal tous les deux jours par la veine marginale de l'oreille, les saignées étaient de 18 à 25 c. c.

Il s'affaiblit progressivement, perd l'appétit; son poids est tombé à la cinquième saignée à 1 kg. 980 et à la sixième saignée il ne pèse plus que 1 kg. 630. L'animal a succombé au bout de la sixième saignée ;

Les numérations globulaires nous révèlent aussi une

diminution progressive du taux des globules rouges qui passe de 4.940.000 à 2.000.000. En voici le tableau :

Saignée	Taux globulaire	Poids
1	4.940.000	2 kg. 400
2	2.950.000	
3	3.000.000	
4	2.360.000	
5	2.180.000	1 kg. 980
6	2.000.000	1 kg. 630

Nous donnons ci-après les résultats des analyses successives pratiquées sur chacune des six saignées, exprimés en grammes par litre de sérum. (*Voir tableau 5*).

Le simple calcul des teneurs des divers constituants par litre peut fournir des résultats troublés par les différences de dilution que peut subir le sang chez l'animal. Nous avons donc calculé les rapports quantitatifs des divers constituants (*voir tableau 6*).

TABLEAU V

Globulines et Lipides qui les accompagnent

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée
Globulines.....	11,04	13,9	20	19,1	20,97	24,12
Lipides gras.....	—	1,6	1,64	2	2,11	1,50
Acides gras.....	—	1,04	1,08	1,65	1,34	0,83
Insaponifiable.....	—	0,36	0,31	0,70	0,42	0,50
Cholestérol.....	—	0,120	0,125	0,204	0,272	0,275
Phosphore.....	—	0,0093	0,0095	0,0075	0,0129	0,0071

Albumines et Lipides qui les accompagnent

Albumines.....	41,12	39,27	42,7	38,9	39,75	44,11
Lipides.....	1,18	1,65	0,8	0,63	0,85	0,71
Acides gras.....	—	0,99	0,50	0,47	0,70	0,40
Insaponifiable.....	—	0,33	0,17	0,14	0,15	0,21
Cholestérol.....	—	0,005	0,015	0,021	0,058	0,09
Phosphore.....	—	0,0102	0,0033	0,004	0,003	0,003

Du tableau N° 5 on peut déduire par calcul les teneurs globales en protéïdes et Lipides totaux

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée
Protides totaux...	52,16	53,17	62,7	58,04	60,73	68,9
Lipides totaux....	—	3,25	2,44	2,63	2,96	2,19
Insaponifiable total	—	0,69	0,48	0,84	0,57	0,71

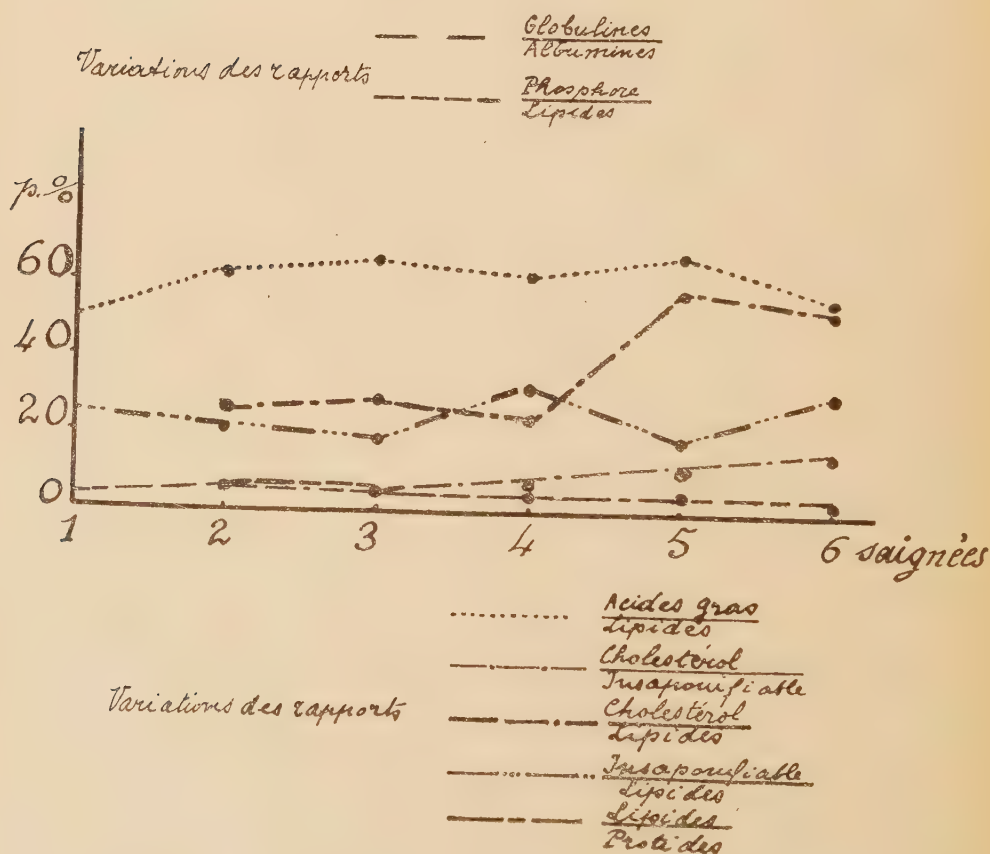
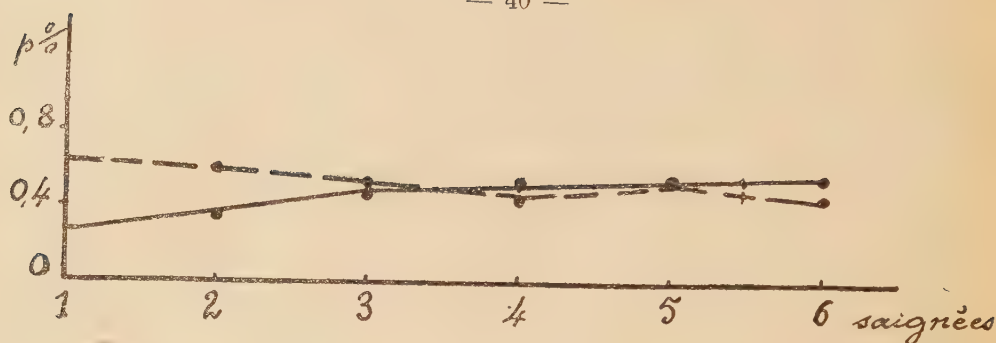
TABLEAU VI

Rapports	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée
Globulines / Albumines.....	0.27	0.35	0.47	0.49	0.53	0.54
Lipides / Protides 0/0.....	—	6.1	3.9	4.5	4.9	3.2
Cholestérol / Lipides 0/0.....	—	5.3	5.7	7.9	11.2	17.1
Cholestérol / Insaponif. 0/0.....	—	26	20.3	24.2	58.	53.
Insaponifiable 0/0 de lipides	25.2	21	19.5	32.1	19.3	31.5
Acides gras / lipides 0/0.....	50.1	62.3	65.9	62.1	67.7	56.3
Phosphore / Lipides totaux.....	0.62	0.60	0.52	0.45	0.52	0.45

L'ensemble de ces résultats est schématisé par les courbes suivantes.

En abscisses nous avons porté les saignées représentées conventionnellement par des points équidistants.

En ordonnées nous avons porté la valeur des rapports centésimaux exprimant les teneurs proportionnelles de deux constituants du sérum.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1° Nous notons une augmentation des protéïdes totaux.

2° Une augmentation très régulière du rapport $\frac{\text{glob.}}{\text{album.}}$ qui passe du simple au double. Le lapin, comme le mouton, régénère donc, et ce fait nous semble important, plus facilement ses globulines que ses albumines.

3° Les lipides totaux restent constants, donc le rapport $\frac{\text{Lipides}}{\text{Protides}}$ diminue légèrement. Ici, comme dans nos autres expériences, nous trouvons donc encore un résultat opposé à celui de Mademoiselle FISHBERG.

4° L'insaponifiable total varie régulièrement autour d'une moyenne stable.

5° Les acides gras restent sensiblement constants.

6° La teneur en phosphore des lipides diminue un peu.

7° En ce qui concerne les fractions lipidoprotéïdiques globulines et albumines considérées séparément, nous notons une diminution assez sensible des graisses des albumines, et celles des globulines restent sensiblement constantes.

**B) Saignées répétées à des intervalles relativement longs.
Avec récupérations de la déperdition globulaire entre les
saignées successives.**

1^o) BREBIS DE 40 A 45 KILOS.

Nous avons pratiqué cinq saignées d'environ 200 c. c. chaque fois en laissant entre elles un espace de 15 à 20 jours. Nous donnons ci-après le tableau des numérations globulaires effectuées à chaque saignée et dans leur intervalle, pour nous permettre de nous rendre compte de la récupération de la déperdition globulaire provoquée par les saignées.

Dates	Nombre de globules rouges par mm ³	Saignées
18 Mars		1 ^{re}
»		
»		
6 avril	6.329.000	2 ^{me}
9 »	4.120.000	
»		
»		
2 Mai	8.200.000	3 ^{me}
»		
»		
12 »	8.500.000	
25 »	8.611.000	
31 »	8.213.000	4 ^{me}
1 ^{er} Juin	6.100.000	
12 »	7.000.000	5 ^{me}
14 »	6.332.000	
22 »	6.900.000	
30 »	7.523.000	
1 ^{er} Juillet	6.300.000	6 ^{me}

Nous avons groupé les résultats des opérations successives pratiquées sur chacune des saignées dans un tableau d'ensemble, exprimés en grammes par litre de **sérum** (*voir tableau 7*).

Comme dans les expériences précédentes, nous avons calculé les rapports quantitatifs des divers constituants (*voir tableau 8*).

TABLEAU VII

<i>Albumines et Lipides qui les accompagnent</i>					
	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée
Albumines.....	37,5	34	29,6	24,64	34,04
Lipides.....	1,91	1,64	1,72	1,43	1,36
Acides gras.....	1,00	1,11	0,94	0,80	0,75
Insaponifiable.....	0,85	0,39	0,63	0,45	0,33
Cholestérol	380	264	336	243	279
Phosphore.....	0,022	0,019	0,022	0,015	0,018
<i>Globulines et Lipides qui les accompagnent</i>					
Globulines.....	42	28,16	48,4	40,33	42,5
Lipides.....	1,32	0,76	1,34	1,12	0,85
Acides gras.....	0,62	0,48	0,77	0,68	0,45
Insaponifiable.....	0,46	0,27	0,53	0,37	0,20
Cholestérol.....	0,20	0,17	0,15	0,23	0,135
Phosphore.....	0,0064	0,0096	0,014	0,0035	0,007

Du tableau N° 7, on peut déduire par calcul les teneurs globales en protéïdes et lipides totaux.

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée
Protides totaux.....	79,5	76,5	78	67	76,5
Lipides totaux.....	3,26	2,4	3,06	2,55	2,21
Insaponifiable total.....	1,31	0,66	1,16	0,82	0,53

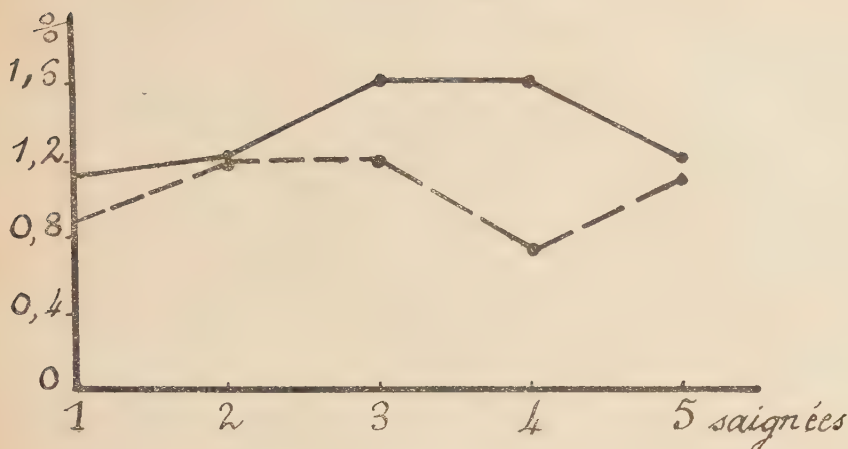
TABLEAU VIII

Rapports	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée
Globulines / Albumines,	1.12	1.24	1.64	1.64	1.25
Lipides p. 100 de protides.	4.1	3.1	4.6	3.8	2.8
Cholestérol p. 100 de Lipides	18.4	18	15.6	18.5	19.2
Cholestérol p. 100 d'Insaponifiable...	45.7	64	42.4	57.3	77.4
Insaponifiable p. 100 de lipides.	39.3	28	36.9	32.3	24
Acides gras p. 100 de lipides.	52.4	—	56.1	58	53.9
Phosphore lipidique p. 100 de lipides.	0.88	1.2	1.21	0.74	1.11

L'ensemble de ces résultats est schématisé par les courbes suivantes :

En abscisses sont portées les saignées représentées conventionnellement par des points équidistants.

En ordonnées sont portées les valeurs des rapports centésimaux exprimant les valeurs proportionnelles de deux constituants du sérum,



— Courbe représentative des variations
du rapport Globulines
Albumines
- - - Variations du rapport Phosphore total
Lipides totaux



..... Acides gras
Lipides
- - - Cholestérol
Insaponifiable
Cholestérol
Lipides
- - - Insaponifiable
Lipides
- - - Lipides
Protides

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1° Les protéides totaux restent constants.

2° Les albumines diminuent légèrement, et le rapport $\frac{\text{glob.}}{\text{album.}}$ remonte.

3° Les graisses totales diminuent et le rapport $\frac{\text{Lipides}}{\text{Protéides}}$ diminue parallèlement.

4° Le cholestérol total reste constant, tandis que l'Insaponifiable total diminue. Donc le rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Insaponifiable}}$ remonte.

5° Les acides gras et le Phosphore restent sensiblement constants.

Pour les fractions individuelles lipidoprotéidiques, globulines et albumines, prises séparément, nous ne notons rien de caractéristique dans cette expérience.

2°) CHIEN DE 18 A 20 KILOS

Nous prélevons pour chaque saignée 100 à 150 c. c. de sang et on laisse reposer l'animal, en vérifiant son taux globulaire. Nous indiquons ci-après les résultats des numérations globulaires et les dates des saignées.

Si on laisse ainsi l'organisme réagir à la suite de saignées espacées, il s'installe même une hyperglobulie assez notable.

Dates	Nombre de globules rouges par mm ³	Saignées
15 Janvier	5.600.000	1 ^{re}
17 »	4.700.000	
2 Février	5.611.000	
8 »	5.605.000	2 ^{me}
10 »	3.920.000	
29 »	4.950.000	
1 ^{er} Mars	4.950.000	3 ^{me}
2 »	3.200.000	
7 Avril	5.823.000	4 ^{me}
9 »	4.780.000	
2 Mai	10.300.000	5 ^{me}
12 »	10.433.000	
31 »	8.900.000	6 ^{me}
10 Juin	11.200.000	7 ^{me}
20 »	11.178.000	
28 »	13.100.000	8 ^{me}
1 ^{er} Juillet	12.000.000	

Nous avons groupé les résultats des opérations successives pratiquées sur chaque saignée dans un tableau d'ensemble exprimés en grammes par litre de sérum (*voir tableau 9*).

Comme dans les expériences précédentes, nous avons calculé les rapports quantitatifs des divers constituants entre eux pour l'ensemble globulines + albumines (*voir tableau 10*).

TABLEAU IX

Albumines et Lipides qui les accompagnent

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Albumines	28,32	27,63	35,2	40,4	24,2	16,8	30,9	33,4
Lipides.....	3,9	—	4,84	4,93	4,56	2,65	4,13	4,46
Acides gras.....	2,96	—	—	3,06	2,23	1,61	2,13	2,35
Insaponifiable.....	0,62	—	0,75	1,9	1,07	0,46	0,78	1,09
Cholestérol.....	0,43	—	0,34	0,89	0,72	0,32	0,57	0,76
Phosphore.....	0,062	—	0,082	0,111	0,089	0,042	0,213	0,123

Globulines et Lipides qui les accompagnent

Globulines.....	65,6	60	44,2	30,18	40,7	44,64	37,9	40,62
Lipides.....	0,76	1,15	0,77	1,44	1,42	1,55	0,58	1,06
Acides gras.....	0,47	0,57	0,47	0,92	0,71	0,91	0,35	0,60
Insaponifiable.....	0,21	0,36	0,21	0,34	0,34	0,39	0,11	0,29
Cholestérol	0,43	0,52	0,54	0,149	0,181	0,252	0,79	0,175
Phosphore.....	0,006	0,011	0,0015	0,017	0,015	0,018	0,004	0,014

Du tableau N°9, on peut déduire par calcul les teneurs globales en protéïdes et lipides totaux.

	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Protides totaux.	94	87	79,4	70,6	64,9	71,3	62,7	72,46
Lipides totaux.	4,66	—	5,6	6,37	5,88	4,2	4,7	5,52
Insaponif. total...	0,86	—	0,96	2,24	1,41	0,85	0,89	1,38

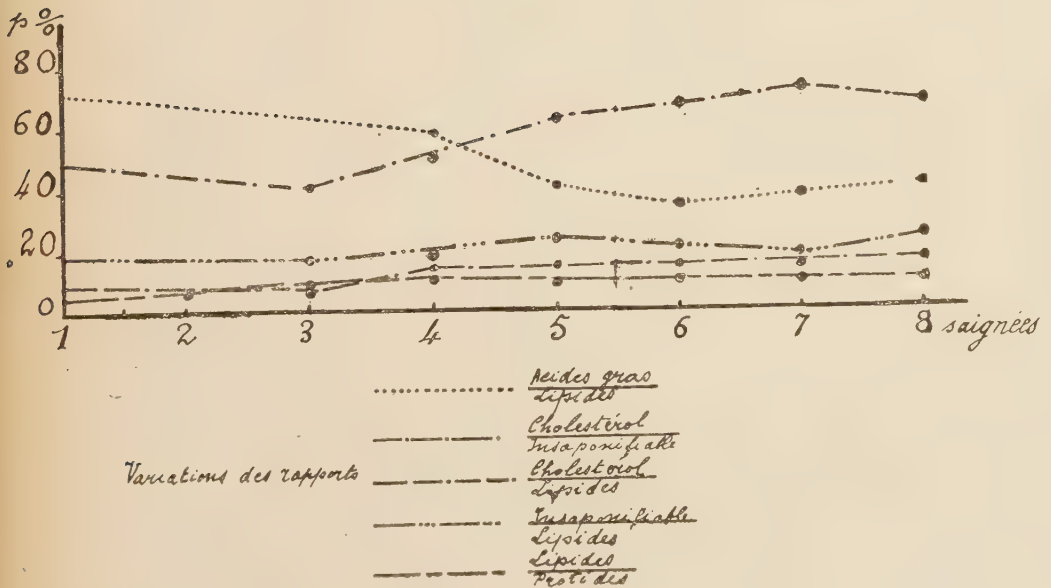
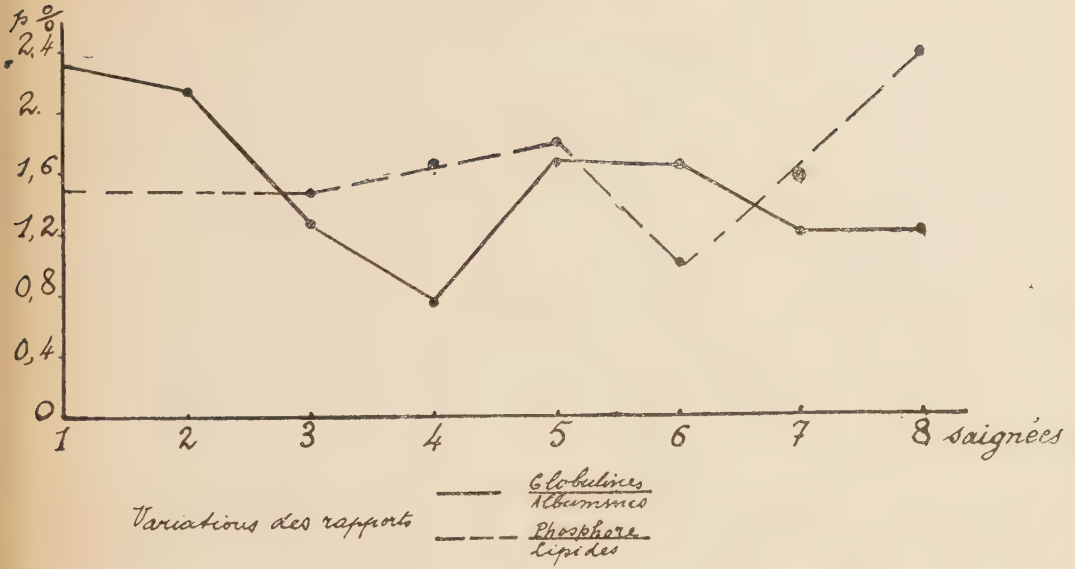
TABLEAU X

Rapports	1 ^e saignée	2 ^e saignée	3 ^e saignée	4 ^e saignée	5 ^e saignée	6 ^e saignée	7 ^e saignée	8 ^e saignée
Globulines/Albumines	2,32	2.15	1.27	0.76	1.68	1.67	1.23	1.23
Lipides/Protides.....	5	—	7	9	9	6	7,5	7,5
Cholestérol p. 100 de Lipides.....	10	—	7	16	15.3	13.6	13.9	17.1
Cholestérol p. 100d'in-saponifiable.....	49	—	40	46	64	67	73	68
Insaponifiable p. 100 de Lipides.....	18	—	17	—	24	20	19	26
Phosphore Lipid. p. 100 de Lipides.....	1.5	—	1.5	1.7	1.8	1.4	1.58	2.44
Acides gras p. 100 de Lipides	73	—	49	62	50	60	51	53

L'ensemble de ces résultats est schématisé par les courbes suivantes :

En abscisses sont portées les saignées représentées conventionnellement par des points équidistants.

En ordonnées sont portées les valeurs des rapports centésimaux exprimant les valeurs proportionnelles de deux constituants du sérum.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le chien en expérience présentait au départ une constitution sérique notablement anormale.

Nous trouvons chez cet animal une hyperglobulinémie très forte et consécutivement le rapport $\frac{\text{lipides}}{\text{protéides}}$ relativement très faible. M. A. MACHEBŒUF et R. WAHL ont montré que la plus grande partie des graisses du sérum accompagne les albumines pour le sérum humain. G. SANDOR a pu vérifier ce fait pour d'autres espèces animales.

Ces faits laissent concevoir la possibilité que le chien en expérience avait une affection latente ou en était convalescent. Nos résultats montrent ainsi que jusqu'à la quatrième saignée à peu près, l'expérience ne concorde pas du tout avec les résultats obtenus dans nos expériences précédentes. (Le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{albumines}}$ diminue.

Le rapport $\frac{\text{Lipides}}{\text{protides}}$ remonte. Le rapport $\frac{\text{Chol.}}{\text{Insap.}}$ diminue, les protides totaux diminuent aussi et les lipides totaux remontent).

Mais après la quatrième saignée :

1° Le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{albumines}}$ remonte

2° Le rapport $\frac{\text{lipides}}{\text{protides}}$ diminue

3° Le rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Insaponifiable}}$ augmente

4° Les protides totaux restent constants ou augmentent un peu.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS

Les résultats des deux séries d'expériences semblent être contradictoires. Le mouton saigné tous les deux jours récupère ses protéides sériques et maintient constant le taux protéidique de son sérum.

Le chien saigné une fois toutes les deux semaines fait une déperdition protéidique manifeste et son taux lipidique augmente. Comment expliquer cette contradiction ?

Il est avant tout manifeste que l'organisme dispose de moyens très puissants pour récupérer les déperditions protéidiques que subit son sang. Malgré les saignées répétées, le mouton a maintenu un taux protéidique constant. La diminution du taux protéidique du sérum, dans le cas du chien, ne peut pas être expliquée simplement par une déperdition de ses protéides à la suite des saignées. Il faut supposer, dans ce cas, une réaction organique active ; réaction de la part du système réticulo-endothélial par exemple qui, irrité par les saignées, réagit en modifiant la constitution de sa sécrétion : le sang. Le taux protéidique diminue et le taux lipidique augmente, parce que le système réticulo-endothélial réagit autrement que dans les conditions normales.

Nous avons vu d'autre part qu'un mouton saigné tous les deux jours de 200 c.c. était mort après deux semaines. Comment expliquer ce fait ? On ne peut pas invoquer comme cause de la mort, la diminution de la masse sanguine et un trouble profond du métabolisme aqueux

de l'organisme qui pourrait en résulter. La constitution quantitative de son sérum ne présente en effet pas de modification sensible. La perte de globules rouges, éléments respiratoires, peut-elle être invoquée ? Certainement non. Un mouton de 50 kg. a, à peu près, 4 litres de sang ; notre animal a donc perdu, en deux semaines, pas tout à fait un tiers de son sang total (1400 cm. c. de sang à peu près). Une anémie s'accompagnant d'une diminution du sang globulaire au tiers est parfaitement compatible avec la vie. Nous avons d'ailleurs fait la vérification directe de ce fait (1).

Un trouble de constitution des graisses pourrait provoquer des manifestations pathologiques suivant l'idée de MAYER, SCHAEFFER et de R. DEQKWITZ. Le rapport $\frac{\text{Phosphore lipidique}}{\text{Insaponifiable total}}$ passe, comme nous l'avons vu, de 0.019 à 0.38, quand on passe de la 1^{re} à la 6^e saignée. Dans le cas du chien, une modification aussi importante de ce rapport ne produit cependant aucune modification pathologique $\frac{(\text{Phosphore lipidique})}{\text{Insaponifiable total}}$ passe de 0.11 : 1^{re} saignée, à 0.05 : 5^e saignée).

Ces modifications profondes dans la constitution des graisses, de même que le changement que subit le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{albumines}}$, nous guident vers une autre explication.

L'autopsie nous a révélé une congestion dans le système splanchnique. Cet état ressemble à un phénomène de choc et rend probable l'hypothèse que la mort est causée par une auto-intoxication. Il se peut donc que le

(1) Nous avons fait à un mouton une saignée massive de 1.400 cm³. Immédiatement après la saignée, l'animal titube et tombe sur le côté. Cette syncope est d'ailleurs simplement une syncope cardiaque d'origine « pneumogastrique ». L'animal se relève bientôt et, vingt quatre heures après, il est en parfait état de santé.

système réticulo-endothélial ait réagi contre les saignées répétées, en produisant des protéides anormalement fabriqués, qui ont causé un déséquilibre humoral, un choc colloïdoclasique typique. Le système réticulo-endothélial paraît en effet intervenir dans le soutien de la constitution physico-chimique de l'ensemble sérique et cet équilibre physico-chimique est indispensable pour les manifestations vitales.

CONCLUSIONS

Si l'on saigne régulièrement de deux jours en deux jours un mouton ou un lapin en lui enlevant un volume relativement grand de sang, on constate diverses variations chimiques de son sérum.

1^o Le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{albumines}}$ s'élève lentement et parfois d'une façon très notable ; il peut atteindre chez le lapin, après six saignées, plus du double de sa valeur primitive. L'ascension n'est pas absolument régulière, la courbe présente parfois quelques irrégularités, mais un fait est constant, le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{albumines}}$ tend à s'élever. Il semble donc que l'animal compense plus facilement ses pertes en globulines que ses pertes en albumines.

2^o Le rapport $\frac{\text{lipides totaux}}{\text{protéides totaux}}$ présente une constance remarquable, avec seulement une très légère baisse progressive. L'animal compense donc à peu près avec la même facilité les pertes qu'il subit en lipides sériques et celles en protéides. Si, par exemple, au début de l'expérience, le sérum de l'animal non saigné contient 4 grammes de lipides pour 100 grammes de protéides, après huit saignées, on trouve encore pour 100 grammes de protéides, 3 grammes environ de lipides. Ce fait est diamétralement opposé aux conclusions de Mlle FISHBERG qui avait avancé que les saignées successives provoquaient chez le lapin une baisse progressive des protéides et une rapide et considérable augmentation des lipides.

Mlle FISHBERG avait admis que l'organisme réagissait contre les pertes en protéides causées par les saignées répétées en augmentant énormément ses lipides plasmatiques. Dans certains cas (Mouton n° 2, 3°, 4° saignées), nous avons pu voir la teneur en protéides du sérum passer en deux jours de 80 à 70 grammes par litre, sans que le rapport $\frac{\text{lipides totaux}}{\text{protéides totaux}}$ soit très sensiblement modifié.

On sait que les protéides du plasma jouent un rôle primordial dans l'équilibre plasma-tissus au niveau des capillaires sanguins. (STARLING, GOVAERTS, etc.). Mlle FISHBERG a cru pouvoir conclure que l'organisme réagit à une diminution des protéides totaux du plasma en augmentant les lipides ; cet auteur attribue aux lipides le rôle de simples colloïdes de remplacement augmentant la pression osmotique colloïdale de STARLING.

Les faits que nous venons de mettre en évidence démentent les conclusions de Mlle FISHBERG.

3° L'animal saigné souvent et assez abondamment conserve assez facilement constante la teneur de son sérum en protéides totaux. Cette teneur présente parfois quelques variations irrégulières auxquelles ne correspond pas une variation opposée de la teneur en lipides totaux.

Le phénomène est plus complexe que ne l'a pensé Mlle FISHBERG.

On sait que dans les équilibres de DONNAN plasma-tissus, les globulines n'interviennent que pour une très faible part, car elles sont peu ionisées au pH. du sérum qui est assez proche de leur isoélectrique. Ce sont surtout les albumines qui interviennent. Bien plus, MACHEBŒUF et SANDOR ont montré que les lipides liés aux albumines modifiaient profondément l'état d'ionisation des

albumines ; c'est donc sur les modifications des albumines et des lipides qui leur sont liés que doit se concentrer l'attention. Nous constatons dans nos expériences que chaque fois que varie chez le mouton la teneur en albumines, la teneur en lipides liés à ces albumines varie en sens inverse. Si la teneur du sérum en albumines baisse, la teneur en lipides de ces albumines augmente et inversement. Chez le lapin, nous constatons également toujours le même phénomène (sauf pour la quatrième saignée où s'est peut-être d'ailleurs glissée une légère erreur).

Si donc l'organisme réagit grâce aux lipides à une baisse de la pression de STARLING, ce n'est pas simplement en augmentant la teneur globale de son plasma en lipides, mais en augmentant la teneur en lipides liés aux albumines, tandis que la teneur en lipides totaux reste à peu près toujours proportionnelle à la teneur en protéides totaux, c'est-à-dire subit simplement les variations de dilution du sérum. Ces faits confirment les conclusions de M. MACHEBŒUF et G. SANDOR sur le rôle des lipides liés aux albumines dans la pression osmotique colloïdale de STARLING et dans la régulation des échanges d'eau et de sels entre les tissus et le sang au niveau des capillaires.

4° La grande résistance des animaux aux variations de constitution du sérum est un fait très intéressant que confirment encore nos expériences. Après six saignées abondantes (20 c.c. soit en tout 120 c.c.) un lapin de 2 kgr. peut avoir dans son sérum une teneur en protéides totaux égale ou même supérieure à celle qu'il avait avant la première saignée. De tous les constituants dont nous avons étudié les variations, le seul dont la diminution soit assez importante et constante au cours des saignées successives, est le phosphore lipoidique.

* * *

Dans une deuxième partie de notre travail, nous avons étudié les modifications du sérum sous l'influence de saignées abondantes mais suffisamment espacées pour que l'animal ait le temps de récupérer entre deux saignées sa teneur normale en globules rouges (quinze jours environ). Nous avons constaté dans ces conditions que le mouton comme le chien reconstituent leur sérum assez vite pour que la répétition des saignées chaque quinzaine ne provoque aucune modification apparente des teneurs en protéides divers et en lipides ou constituants lipidiques divers.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE	3
I. AVANT-PROPOS	5
II. INTRODUCTION	7
III. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	9
IV. TRAVAUX PERSONNELS	16
1. Protocole expérimental.....	17
2. Résultats des recherches expérimentales.....	24
A. Saignées pratiquées à des intervalles très rapprochés	24
B. Saignées répétées à des intervalles relativement longs avec récupération de la déperdition globulaire entre les saignées successives.	42
3. Interprétation générale des résultats.....	55
V. CONCLUSIONS.....	58

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ :

La Métamorphose des Batraciens

Vu et approuvé :

Paris, le 18 Juillet 1934,

Le Doyen de la Faculté des Sciences

CH. MAURAIN

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

S. CHARLÉTY

